

بررسی اثر ضد دردی فرم فعال ویتامین D در یک مدل درد نوروپاتی

چکیده

زمینه و هدف: با وجود اینکه افراد زیادی مبتلا به دردهای مزمن از جمله درد نوروپاتیک می‌باشند، ولی هنوز درمان مناسب و قطعی برای آن ارایه نشده است. فرم فعال ویتامین D (1,25 dihydroxy Vitamin D3) باعث افزایش میزان نوروتروفین‌ها بویژه NGF (Nerve growth factor) و کاهش میزان NOS (Nitric oxide synthase) می‌شود که هر دو در ایجاد درد نقش دارند. وجود رسپتور این ویتامین در نخاع و مغز، نشانگر نقش آن در سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد. براساس گزارشات موجود، کمبود ویتامین D در افراد جوان، یکی از دلایل وجود دردهای مزمن مانند دردهای عضلانی - اسکلتی در این سنین می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد دردی فرم فعال ویتامین D در یک مدل نوروپاتی در موشهای صحرایی نر صورت گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه ۴۰ موش صحرایی نر نژاد wistar در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم به طور تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. جهت ایجاد درد نوروپاتی از مدل CCI (Chronic constriction injury) استفاده گردید. تزریق از روز بعد از عمل، به فواصل ۲ روز در میان، به مدت یک ماه و به صورت داخل صفاقی انجام شد. جهت بررسی آلودینیای مکانیکی، از تست Von frey و آلودینیای سرمایی، از تست استون استفاده گردید. به این منظور، حیوانات، قبل از عمل، روز بعد از عمل و سپس به فواصل یک هفته در طول آزمایش، تست شدند. جهت بررسی نتایج، از تستهای آماری ANOVA و Newman Kules استفاده شد و $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: براساس نتایج بدست آمده، تزریق ویتامین D در حیوانات سالم، تغییر معنی‌داری در آستانه درد ایجاد نکرده است. حیواناتی که تحت عمل CCI واقع شده بودند، با شدت بیش‌تری به محرک مکانیکی و سرمایی پاسخ دادند. در گروهی که به دنبال عمل CCI، محلول حاوی ویتامین D دریافت نموده بودند، عکس‌العمل نسبت به محرک مکانیکی و سرمایی در مقایسه با گروه‌های دیگر، کاهش یافته بود و در مورد آلودینیای سرمایی، از روز اول آزمایش، تفاوت معنی‌داری بین گروهی که ویتامین D دریافت کرده بودند، با گروهی که محلول vehicle گرفته بودند، وجود داشت و تا آخرین روز آزمایش نیز، تفاوت بین این دو گروه معنی‌دار بود، در حالی که این تفاوت در مورد آلودینیای مکانیکی فقط در هفته چهارم آزمایش معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که 1,25 Dihydroxy vitamin D3 تاثیری بر آستانه درد در حیوانات سالم نخواهد داشت، در حالی که باعث کاهش میزان درد به دنبال آسیب عصبی می‌شود. به نظر می‌رسد اثر تزریق ویتامین D بر کاهش درد، در مورد آلودینیای سرمایی و مکانیکی، از نظر زمانی متفاوت بوده و در مورد آلودینیای سرمایی، زودتر از آلودینیای مکانیکی ظاهر می‌شود. بنابراین استفاده از این ویتامین در کلینیک، می‌تواند راه حل مناسبی جهت از بین بردن دردهای مزمن به حساب آید.

کلیدواژه‌ها: ۱- ویتامین D3 ۲- آلودینیای سرمایی ۳- درد نوروپاتی ۴- آلودینیای مکانیکی

*دکتر فریناز نصیری نژاد I

دکتر احسان رمضانیا نیک II

دکتر مهسا صادقی II

دکتر حمیدرضا پازوکی طرودی III

تاریخ دریافت: ۸۵/۵/۲، تاریخ پذیرش: ۸۵/۷/۱۰

(I) استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران (*مؤلف مسؤول).

(II) پزشک عمومی.

(III) استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

مقدمه

درد نوروپاتیک، با تخریب یا اختلال در عملکرد سیستم عصبی، اعم از اعصاب مرکزی و یا محیطی همراه است^(۱)؛ این درد، نوعی درد مزمن به حساب می‌آید که بیماران زیادی از آن رنج می‌برند. از مهم‌ترین علل ایجاد این نوع درد، می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- ۱- آسیب به سیستم اعصاب مرکزی و یا محیطی بویژه آسیب‌های نخاعی
- ۲- عفونت‌ها و التهابات عصبی
- ۳- فشار ناشی از رشد نئوپلاسم‌ها به عصب‌ها مثل سندرم تونل کارپال
- ۴- اختلالات متابولیکی مثل نوروپاتی دیابتی یا اورمی
- ۵- ایسکمی به عنوان مثال بر اثر انفارکتوس و یا سکته مغزی.

علائم بیان شده توسط بیمارانی که از دردهای نوروپاتیک رنج می‌برند، متفاوت و گسترده می‌باشد، ولی تقریباً تمامی این بیماران در وجود درد خودبخودی، افزایش حساسیت نسبت به محرک‌های دردزا (هیپرآلجیا) و احساس درد نسبت به محرک‌های غیر دردزا (آلودینیا) اتفاق نظر دارند.^(۱)

مکانیسم‌های متفاوتی پیرامون ایجاد دردهای نوروپاتیک معرفی شده‌اند که از بین آنها، کاهش اثر مهاري نورون‌های گابانرژیک نخاع و تغییر در میزان نوروتروفین‌ها در سیستم عصبی را می‌توان نام برد.^(۲) نوروتروفین‌ها، پروتئین‌هایی هستند که در رشد، تمایز و نگهداری بافت عصبی نقش ایفا می‌کنند. (Nerve growth factor) NGF، از مهم‌ترین نوروتروفین‌هایی می‌باشد که به نظر می‌رسد، بیش‌تر از طریق بازسازی و نگهداری بافت‌های عصبی باعث بهبود عملکرد نخاع و سیستم عصبی پس از آسیب‌های وارده می‌شود. مطالعات اخیر، کاهش پاسخ، نسبت به محرک‌های حرارتی به دنبال افزایش NGF در مدل‌های درد مزمن را نشان می‌دهند که حاکی از کاهش میزان درد آنها است.^(۳)

ماده موثر دیگر در ایجاد دردهای مزمن، مولکولی به نام NO (Nitric oxide) است که در ایجاد پاسخ‌های هیپرآلجیک نقش دارد. مهم‌ترین علت ایجاد هیپرآلجیا، حساس‌شدن

رسپتورهای درد در محیط است که باعث افزایش شدت پاسخ به محرک‌های حرارتی و مکانیکی می‌شود. نشان داده شده است که استفاده از N-Omega-nitro-L-arginin ester که مهارکننده سنتز NO می‌باشد، باعث کاهش هیپرآلجیا می‌شود.^(۴) همچنین 7-nitroindazol که از دیگر مهارکننده‌های سنتز NO است، باعث به تاخیر انداختن تخریب نورون‌های نخاعی در اثر آسیب‌های وارده خواهد شد.^(۵)

از زمان کشف ویتامین‌ها تا چند سال گذشته، مهم‌ترین نقشی که برای آنها در نظر گرفته شده بود، عمل تنظیم‌کنندگی آنها بود و اثرات درمانی آنها هم فقط به بیماری‌های ناشی از کمبود ویتامین محدود می‌شد. ویتامین D، یک پروهورمون استروئیدی است که نوع فعال آن در متابولیسم کلسیم فسفات نقش عمده‌ای دارد. ویتامین D₃ یا کوله کلسیفرول، شکلی از این ویتامین است که توسط کبد، جذب و به ۲۵ هیدروکسی کوله کلسیفرول، تبدیل و سپس در توبول‌های کلیوی و استخوان، تحت اثر آنزیم هیدروکسیلاز، به ۱ و ۲۵ دی‌هیدروکسی کوله کلسیفرول یا calcitriol، که مهم‌ترین متابولیت ویتامین D در بدن می‌باشد، تبدیل می‌شود. به نظر می‌رسد این ویتامین نقش گسترده‌ای در سیستم اعصاب مرکزی و محیطی دارد.^(۶، ۷) کشف رسپتور این ویتامین یا (vitamin D receptor) VDR، در نواحی مختلف مغز و بویژه در نخاع، می‌تواند شاهی بر این مدعا و دلیل قانع‌کننده‌ای برای اثبات عبور این ویتامین از سد خونی - مغزی باشد.^(۸)

از دیگر بررسی‌های انجام شده پیرامون اثر ویتامین D₃ در سیستم عصبی، می‌توان به نقش این ویتامین در افزایش قابل توجه میزان نوروتروفین‌ها بویژه NGF در عضلات و سیستم عصبی اشاره کرد.^(۹) بررسی‌های دقیق‌تر، نشان دهنده اثر مستقیم این ویتامین در افزایش نسخه‌برداری NGF در سلول‌های نقاط مختلف سیستم عصبی است.^(۱۰) این ویتامین در کاهش و مهار سنتز آنزیم سازنده NO یا NOS (Nitric oxide synthase) نیز نقش دارد.^(۱۱) همان گونه که اشاره گردید، NO یک عامل موثر در ایجاد پاسخ‌های دردزا به حساب می‌آید.

پس از انجام عمل CCI، محلول ویتامین D دریافت کردند و گروه CCI+Vehicle، شامل رت‌هایی بود که تحت عمل CCI قرار گرفتند و پس از آن، محلول vehicle دریافت کردند.

جهت بیهوش کردن حیوانات، از تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین ۲٪ به نسبت ۸ به ۱ استفاده شد. پس از حصول اطمینان از بیهوشی کامل، برشی کوچک در راستای خط فرضی که زانوی پای چپ را به خار استخوان ایلیاک متصل می‌کند، ایجاد شد. پس از بریدن و کنار زدن عضله biceps femoris و رؤیت عصب سیاتیک، به وسیله پنس مخصوص، اتصالات همبندی عصب از سایر بافتهای مجاور جدا گردید. جهت ایجاد درد، از مدل CCI ارایه شده توسط Bennett و Xie استفاده گردید^(۱۳)، به این صورت که با استفاده از نخ بخیه کرومیک ۴/۰، در محل قبل از سه شاخه شدن عصب سیاتیک، ۴ گره شل با فواصل یک میلیمتری به دور آن ایجاد گردید، به گونه‌ای که جریان خون عصب، قطع نگردد. نحوه شلی گره‌ها با استفاده از حرکت دادن نخهای گره زده شده بر روی عصب تخمین زده شد و جهت اطمینان از برقراری جریان خون، از میکروسکوپ لوپ استفاده گردید. سپس به ترتیب با استفاده از نخ سیلک، عضله و پوست بخیه شدند. در صورتی که حیوانات علایم مربوط به مدل CCI مانند جمع‌شدگی انگشتان پا و عدم برقراری وزن بدن بر روی پای آسیب دیده را نشان نمی‌دادند، از مطالعه کنار گذاشته می‌شدند.

جهت تزریق، پودر ویتامین D3 در حلال (شامل مخلوط ۸۰٪ پروپیلان گلیکول و ۲۰٪ سدیم دی‌فسفات ۰/۰۵ مولار با غلظت ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر) حل گردید. تزریق محلول ویتامین D3، به صورت داخل صفاقی و با دوز ۱ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از روز اول بعد از جراحی، شروع و سپس به فواصل دو روز در میان در تمام طول مدت مطالعه به مدت یک ماه ادامه یافت.

جهت بررسی میزان تغییرات درد در حیوانات، در ۶ نوبت به ترتیب، قبل از جراحی، یک روز بعد از جراحی و سپس در هفته‌های اول تا چهارم، تست بعمل آمد.

با توجه به تعدد بیماران مبتلا به دردهای مزمن و اثرات آن بر جنبه‌های مختلف کیفیت زندگی در بیماران مبتلا^(۱۱)، پیدا کردن راه درمانی مناسب جهت کمک به این افراد و بالا بردن سطح کیفیت زندگی آنها، امری لازم و ضروری به نظر می‌رسد. براساس گزارش سازمان جهانی بهداشت، داروهای موجود در درمان درد نوروپاتیک هنوز موفقیت زیادی در از بین بردن این نوع درد کسب نکرده‌اند. داروهای تجویز شده در درمان این داروها، براساس علایم مشاهده شده در بیماران، متفاوت می‌باشند. از بین این داروها، ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای، مسدود کننده‌های کانالهای سدیم، گاباپنتین، اوپیوئیدها و بلاکرای کانال‌های (N-methyl-D-aspartic acid)NMDA، بیشترین موارد استفاده را دارند ولی هیچ یک نتوانسته‌اند به طور موثر باعث بهبود درد نوروپاتیک شوند. گذشته از این امر، استفاده از هر یک از داروهای نامبرده، به دلیل اثرات جانبی متعدد، محدودیت‌هایی را ایجاد می‌نماید.^(۱۲)

با توجه به پراکندگی رسپتورهای ویتامین D در سیستم اعصاب مرکزی و نقش این ویتامین در تغییر میزان نوروتروفین‌ها و NO، این مطالعه با هدف بررسی اثرات این ویتامین به عنوان یک ماده ضد درد در بدن صورت گرفت.

روش بررسی

تمامی مراحل آزمایش در این تحقیق براساس دستورالعمل سازمان بین‌المللی مطالعه درد (International association for the study of pain)، انجام گردید.

در این مطالعه که از نوع experimental می‌باشد، از موشهای نر بالغ نژاد wistar در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم که به طور تصادفی انتخاب شدند، استفاده گردید. ۴۰ موش در ۴ گروه ۱۰ تایی به صورت ذیل مورد بررسی قرار گرفتند:

گروه Normal+Vit، شامل حیوانات سالمی بود که محلول حاوی ویتامین D دریافت کردند. گروه CCI، شامل حیواناتی بود که تحت عمل آسیب عصبی (Chronic constriction Injury) قرار گرفتند. گروه CCI+Vit، شامل حیواناتی بود که

مراحل جراحی و تستها توسط یک نفر انجام گردید. جهت انجام مطالعات آماری، از نتایج بدست آمده در هر گروه آزمایشی، میانگین گرفته شد و میانگین گروه‌های مختلف، با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های ANOVA و Student-Newman-Kuels مقایسه شدند و $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان کلسیم در سرم خون، نشان دهنده این است که تزریق فرم فعال ویتامین D به میزان ۱ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، اثری بر میزان کلسیم سرم نداشته است.

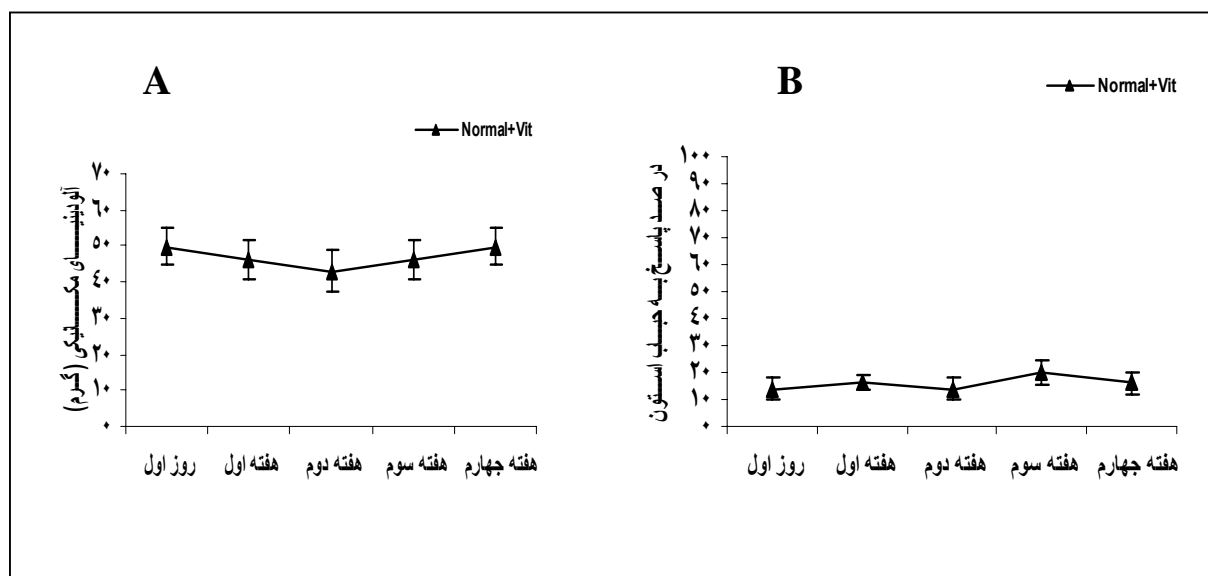
نمودار شماره ۱ نشان دهنده اثر تزریق فرم فعال ویتامین D به حیوانات نرمال می‌باشد. همان گونه که در منحنی مشخص می‌باشد، تزریق ویتامین در حیوانات نرمال، تا آخرین روز آزمایش، تغییری در آستانه آلودینیای مکانیکی (A) و سرمایی (B) ایجاد نکرده است و در هیچ یک از روزهای آزمایش، تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود که نشان می‌دهد در حیوانات نرمال، تزریق ویتامین با دوز ۱ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، تاثیری در آستانه حس مکانیکی و سرمایی حیوانات ندارد.

جهت سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای شماره ۴/۶۵، ۴/۷۴، ۴/۹۳، ۵/۰۷، ۵/۱۸، ۵/۴۶ و ۵/۸۸ ست von Frey استفاده گردید. به منظور انجام این تست، حیوانات در قفس‌های مخصوص قرار گرفتند و توسط تارهای ذکر شده، به کف پای حیوان فشار وارد شد، هر تار، ۵ بار، با فواصل حداقل ۵ ثانیه، تست شد و در صورتی که حیوان به ۳ مورد از ۵ مورد تست شده با کشیدن پا و یا جویدن آن پاسخ می‌داد، آن فشار به عنوان آستانه ثبت می‌گردید.

به منظور انجام تست استون، جهت تعیین آلودینیای سرمایی، یک قطره استون به کف پای حیوان چکانده شد. این تست نیز ۵ بار، با فواصل زمانی حداقل یک دقیقه انجام شد و در ازای وجود عکس‌العمل، علامت مثبت ثبت گردید و در نهایت نتیجه به صورت درصد بیان شد.

از آنجا که ویتامین D عاملی موثر در افزایش میزان کلسیم سرم می‌باشد، جهت تعیین اثر تزریق فرم فعال ویتامین D به میزان ۱ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بر میزان کلسیم سرم، در آخرین روز آزمایش، به روش transcathelial از حیوانات خونگیری شد و با استفاده از سانتریفوژ، سرم آن، جدا و جهت تعیین میزان کلسیم، در فریزر نگهداری شد.

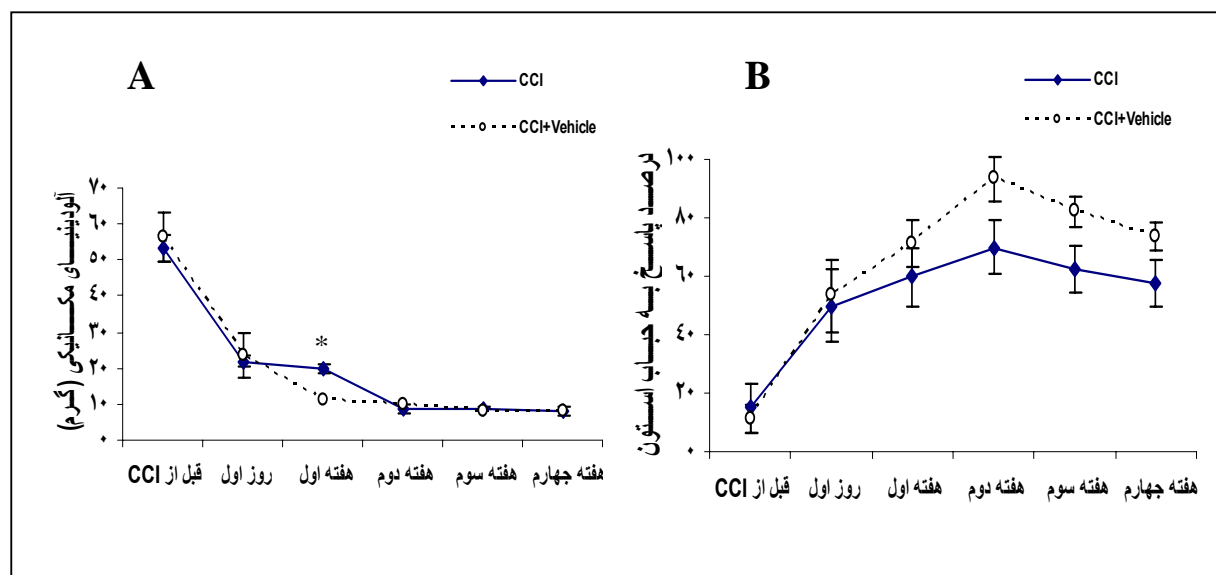
جهت از بین بردن هر گونه تورش و همسان‌سازی، تمامی



نمودار شماره ۱- اثر تزریق فرم فعال ویتامین D بر آلودینیای مکانیکی (A) و آلودینیای سرمایی (B) در حیوانات نرمال. تفاوت معنی‌داری در هیچ یک از روزهای آزمایش در تستهای فوق مشاهده نمی‌شود.

نمودار شماره ۳ نشان دهنده مقایسه تغییرات آلودینیای مکانیکی و سرمایی در حیواناتی است که بعد از انجام عمل CCI، محلول حاوی ویتامین و یا محلول vehicle دریافت کرده‌اند. در حیواناتی که محلول حاوی ویتامین دریافت کرده‌اند، افزایشی در آستانه حس مکانیکی دیده می‌شود. آستانه حس مکانیکی در این گروه، در روز کنترل یا قبل از عمل جراحی، ۵۷، در هفته دوم، ۱۲ و در هفته چهارم، ۳۴ بود، که حاکی از بالا رفتن آستانه حس مکانیکی است. در این گروه، روند کاهش آستانه حس مکانیکی تا هفته دوم بعد از جراحی، مشابه حیواناتی است که محلول vehicle دریافت داشته‌اند، بطوری که تا هفته دوم بعد از جراحی تفاوت معنی‌داری بین این گروه و گروهی که محلول vehicle دریافت کرده‌اند، وجود ندارد ولی از هفته سوم به بعد، دو منحنی از یکدیگر فاصله گرفته و در هفته چهارم، تفاوت معنی‌داری ($P < 0.001$) در آستانه حس مکانیکی بین دو گروه حیوانات دریافت کننده vehicle و گروه دریافت کننده محلول ویتامین وجود داشته است (A). مقایسه درصد پاسخ به استون بین این دو گروه، نشان دهنده تفاوت معنی‌داری از اولین روز بعد از جراحی می‌باشد. این تفاوت

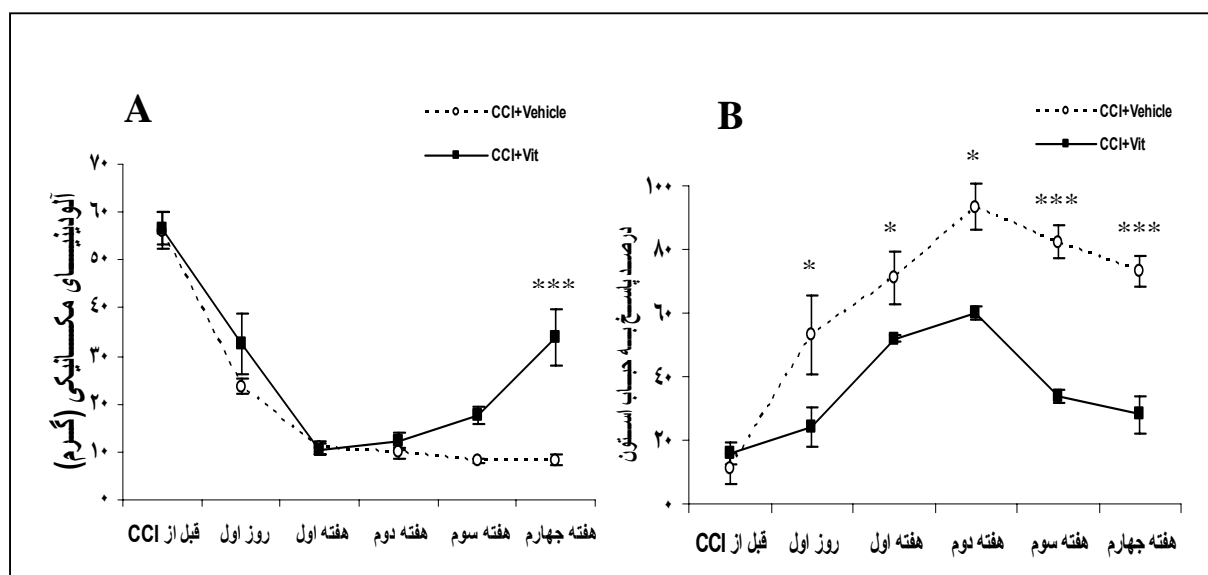
نمودار شماره ۲ تغییرات آستانه مکانیکی و سرمایی در حیواناتی را نشان می‌دهد که تحت عمل CCI به تنهایی و یا به همراه تزریق محلول vehicle واقع شده‌اند. انجام عمل CCI، باعث کاهش در آستانه حس مکانیکی (A) و افزایش درصد پاسخ به استون (B) شده است. کاهش در آستانه حس مکانیکی، از اولین روز بعد از جراحی، شروع و تا آخرین روز آزمایش، ادامه داشته است، بطوری که در حیوانات این گروه، از ۵۳ در تست قبل از انجام عمل CCI، به ۸ در هفته چهارم بعد از جراحی رسیده است. در حیواناتی که محلول vehicle دریافت کرده‌اند، آستانه درد مکانیکی مشابه با حیواناتی که تحت عمل CCI واقع شده‌اند، کاهش یافته است و فقط در هفته اول بعد از CCI، تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین دو گروه دیده می‌شود. روند افزایش درصد پاسخ به استون نیز، در حیواناتی که بعد از عمل CCI محلول vehicle دریافت کرده‌اند، مشابه حیواناتی است که فقط تحت عمل CCI واقع شده‌اند و درصد پاسخ به استون در این گروه نسبت به روز کنترل، افزایش یافته است و این افزایش تا آخرین روز آزمایش باقی مانده است، در هیچ یک از روزهای آزمایش، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد (B).



نمودار شماره ۲- اثر ایجاد آسیب عصبی به تنهایی و همراه با تزریق محلول vehicle بر آلودینیای مکانیکی (A) و آلودینیای سرمایی (B). علامت * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین گروه CCI و CCI+vehicle می‌باشد.

کاهش یافته است. البته میزان درد در تست استون، از اولین روز بعد از CCI در این گروه، نسبت به گروهی که ویتامین دریافت نکرده‌اند، کمتر بوده است؛ این در حالی است که در حیواناتی که محلول vehicle دریافت داشته‌اند، اثر ضد دردی مشاهده نشده است و نتایج حاصل از تستهای Von Frey و استون، نشان دهنده وجود آلودینیای در این

از روز اول تا هفته اول بعد از جراحی با $P < 0.05$ و در هفته سوم و چهارم با $P < 0.001$ ، معنی‌دار بود و بطور کلی درصد پاسخ به استون در حیواناتی که ویتامین دریافت نموده بودند، نسبت به حیواناتی که محلول vehicle دریافت کرده بودند، پایین‌تر بود که حاکی از کاهش حساسیت به آلودینیای سرمایی در حیواناتی است که ویتامین دریافت می‌کردند (B).



نمودار شماره ۳- مقایسه تزریق محلول حاوی ویتامین D و محلول vehicle بر آلودینیای مکانیکی (A) و آلودینیای سرمایی (B) در حیواناتی که تحت عمل آسیب عصبی قرار گرفته‌اند. علامت * و *** به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$ و $P < 0.001$) بین دو گروه می‌باشند.

حیوانات می‌باشد که مشابه تغییرات ایجاد شده در حیواناتی است که فقط تحت عمل CCI واقع شده‌اند. ظاهراً اثر ضد دردی این ویتامین بر روی آلودینیای حرارتی و مکانیکی، از نظر زمانی متفاوت می‌باشد و اثر آن بر آلودینیای سرمایی، زودتر از آلودینیای مکانیکی ظاهر می‌شود. با توجه به وجود شواهدی مبنی بر متفاوت بودن زمان ایجاد آلودینیای حرارتی و مکانیکی و طول مدت آن در مدل‌های درد نوروپاتی، وجود تفاوت زمانی در کاهش آلودینیای مکانیکی و حرارتی مشاهده شده در این آزمایش، دور از ذهن نمی‌باشد.^(۱۵ و ۱۴)

در مورد اثرات ویتامین D بر سیستم اعصاب مرکزی، اطلاعات زیادی در دسترس نمی‌باشد. ولی وجود گسترده

بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان دهنده موثر بودن عمل CCI در ایجاد درد در حیوانات است. انجام عمل CCI باعث ایجاد آلودینیای حرارتی و مکانیکی در حیوانات شده که حداکثر میزان آن در هفته دوم مشاهده شده است و تا آخرین روز آزمایش نیز باقی مانده است.

همچنین این نتایج نشان می‌دهد که تزریق فرم فعال ویتامین D می‌تواند باعث کاهش میزان درد گردد. ظاهراً برای آشکار شدن اثر ضد دردی این ویتامین در حیوانات، نیاز به زمان می‌باشد و همان گونه که از منحنی‌های نشان داده شده مشخص است، در حیواناتی که پس از انجام CCI ویتامین دریافت کرده‌اند، از هفته سوم بعد از CCI، درد

رستپتورهای این ویتامین در مناطق حسی و حرکتی و سیستم لیمبیک در مغز و نخاع، نشان دهنده اعمال متفاوت این ویتامین در سیستم اعصاب مرکزی است.^(۶) مطالعات اخیر نشان دهنده این است که استفاده مداوم از ویتامین D در حیوانات، باعث کاهش اثرات وابسته به سن مانند کاهش تعداد نورون‌ها، در هیپوکامپ می‌شود و می‌تواند در مدل‌های حیوانی، از تخریب نورونی در اثر سکت‌های مغزی جلوگیری نماید^(۶)، بنابراین به نظر می‌رسد باعث حفاظت نورونی خواهد شد. در این رابطه، جلوگیری در از بین رفتن میلین نورون‌ها، شاهد دیگری بر اثر حفاظتی این ویتامین است. ظاهراً اثرات حفاظتی این ویتامین بر نورون‌ها، به صورت وابسته به دوز است زیرا در صورتی که غلظت آن در محیط کشت نورون‌ها افزایش یابد، نه تنها اثرات حفاظتی بر سلول‌ها ندارد، بلکه باعث تخریب نورون‌های حرکتی خواهد شد.^(۷)

در مورد نقش ویتامین D در کنترل درد مزمن، می‌توان مکانیسم‌های متفاوتی را بیان نمود. شواهدی مبنی بر اثر این ویتامین بر افزایش میزان فاکتورهای تروفیک مانند NGF، Glial cell line derived neurotrophic factor (GDNF) و NT3 (Neurotrophin 3) وجود دارد.^(۸ و ۹) نشان داده شده است که کاهش ویتامین، باعث کاهش NGF و GDNF و تغییر در میزان رستپتور P57 مربوط به نوروتروفین‌ها خواهد شد.^(۹) اثرات تروفیک NGF بر نورون‌های کولینرژیک در Forebrain و اثرات GDNF بر نورون‌های دوپامینرژیک Basal ganglia بخوبی مشخص شده است.^(۱۰) لازم به ذکر است که منطقه Forebrain مغز در ایجاد رفتار درد دخالت دارد.

در کنار این گزارشات، تحقیقاتی مبنی بر اثر NGF در از بین بردن هیپر آلفزیای حرارتی ایجاد شده به دنبال CCI وجود دارد. این عمل NGF بین روزهای ۶۸-۴، برای گرما و در روزهای ۲۸-۲، برای سرما دیده شده است.^(۱۱) این امر نشان دهنده وجود مکانیسم‌های متفاوت در ایجاد آلودینیای حرارتی است.

یکی از مکانیسم‌های بیان شده در ایجاد درد در مدل CCI، ایجاد جوانه‌های آکسونی از نورون‌هایی است که در حالت

عادی مسئول انتقال حس درد نمی‌باشند. این فیبرهای میلین‌دار که در سمت پروگزیمال منطقه تحت فشار قرار گرفته‌اند، در عصب سیاتیک سالم باقی می‌مانند و جوانه‌هایی به لامیناهای I و II نخاع می‌فرستند. نورون‌های این دو لایه در نخاع، مسئول انتقال پیام درد به مراکز بالایی هستند، بنابراین افزایش میزان نوروتروفین‌ها در نخاع که می‌تواند به دنبال حضور ویتامین D روی دهد، با جلوگیری از ایجاد این جوانه‌های نابجا، راه مناسبی جهت از بین بردن درد خواهد بود، بعلاوه همان گونه که ذکر گردید، این احتمال وجود دارد که با ایجاد عمل CCI، انتقال رتروگراد نوروتروفین‌ها و بخصوص NGF از محیط به DRG (Dorsal root ganglion) دچار اختلال گردد و این، منجر به اختلال در پیام رسیده توسط نوروترانسمیترها در نخاع می‌گردد. در صورتی که ویتامین D باعث افزایش NGF در نخاع شود، انتقال این نوروتروفین از نخاع به DRG، می‌تواند باعث تنظیم پیام‌های رسیده از DRG به نخاع و تعدیل درد گردد.

در مورد نقش NO در سیستم اعصاب مرکزی نیز، شواهدی دال بر افزایش تولید آن در صدمات وارده به سیستم اعصاب مرکزی وجود دارد و بسیاری از محققین، این افزایش را عامل اصلی در ایجاد تغییرات حاصله در این آسیب‌ها می‌دانند. به نظر می‌رسد افزایش NO مترشحه از سلول‌های گلیال باعث مرگ الیگودندروسیت‌ها در بیماری MS (Multiple sclerosis) می‌شود.^(۱۲) در مورد نقش ویتامین D در این رابطه نیز نشان داده شده است که بسیاری از بیماران مونث مبتلا به این بیماری، در پیش‌ساز ویتامین D اختلال دارند. براساس مطالعات انجام شده، در مناطقی که میلین از دست می‌رود، میزان NO افزایش یافته است.^(۱۳)

در صورتی که ویتامین D باعث کاهش ساخته شدن NOS در سلول‌های مختلف شود، می‌تواند اثرات کلینیکی متفاوت داشته باشد، زیرا NO و NOS در ایجاد بسیاری از اختلالات عصبی مزمن نقش دارند. اینکه این ویتامین منجر به کاهش NOS و به دنبال آن، کاهش میزان NO می‌شود، خود می‌تواند توجیهی جهت از بین بردن درد باشد، زیرا نشان داده شده است که استفاده از بلاک‌های سنتز NO مثل

2- Moore KA, Kohno T, Karchewski LA, Scholz J, Baba H, Wood CJ. Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horns of the spinal cord. *J Neurosci* 2002; 22(15): 6724-31.

3- Atall N, Brasseur L, Parker F, Chauvin M, Bouhassira D. Effect of gabapentine on the different component of peripheral and central neuropathic pain syndromes: A pilot study. *Eur Neurol* 1998; 40: 191-200.

4- Salter M, Strijbos PJ, Neale S, Duffy C, Follenfant RL, Garthwaite J. The nitric oxide GMP pathway is required for nociceptive signalling at specific loci within the somatosensory pathway. *Neuroscience* 1996; 73(3): 649-55.

5- Ikeda K, Iwasaki Y, Kinoshita M. Neuronal nitric oxide synthase inhibitor, 7-nitroindazole delays motor dysfunction and spinal motoneuron degeneration in the wobbler mouse. *J Neurobiol* 1998; 160(1): 9-15.

6- Garcion E, Wion-Baobot N, Montero-menei CN, Berger F, Wion D. New clues about vitamin D functions in the nervous system. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13: 100-105.

7- Nataf S, Garcion E, Darcy F, Chabannes D, Muller JY, Brachet P. 1,25 Dihydroxyvitamin D3 exerts regional effect in the central nervous system during experimental allergic encephalomyelitis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996; 55: 904-14.

8- Pruffer K, Veenstra TD, Jirikowski GF, Kumar R. Distribution of 1,25 Dihydroxyvitamin D3 receptor immunoreactivity in the rat brain and spinal cord. *J Chem Neuroanat* 1999; 16: 135-45.

9- Riaz S, Malcangio M, Miller M, Tomlinson DR. A vitamin D3 derivative (CB1093) induces NGF and prevent neurotrophic deficits in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 1999; 42: 1308-13.

10- Ren K, Thomas DA, Dubner R. Nerve growth factor alleviates a painful peripheral neuropathy in rats. *Brain Res* 1995; 699: 286-92.

11- Rowbotham DJ. Neuropathic pain and quality of life. *European journal of pain* 2002; 6(suppl.B): 19-24.

12- Siddall PJ, Cousins MJ. Spine update, spinal pain mechanism. *Spine* 1997; 22: 98-104.

13- Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorder of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33: 87-107.

14- Mamlberg AB, Basbaum AI. Partial sciatic nerve injury in the mouse as model of neuropathic pain: behavioral and neuroanatomical correlates. *Pain* 1998; 76(1-2): 215-22.

L-NAME باعث بی‌دردی خواهد شد.^(۲۳) همچنین ساخته شدن NO را مسؤول ایجاد پدیده تحمل که به دنبال استفاده طولانی مدت از مورفین حاصل می‌شود، می‌دانند.^(۲۴) بنابراین این احتمال وجود دارد که فرم فعال ویتامین D با گذشتن از سد خونی - مغزی در نخاع و یا مراکز بالاتر که در حس درد دخالت دارند، باعث کاهش ساخته شدن NO و به دنبال آن افزایش آستانه درد گردد.

در رابطه با اثر این ویتامین بر درد، در تحقیقی که بر روی بیماران مبتلا به سرطان پروستات انجام گردید، نشان داده شد که تجویز فرم فعال ویتامین D باعث کاهش میزان درد این بیماران گردید.^(۲۵) کمبود ویتامین D باعث ایجاد درد مزمن در عضلات و استخوان‌ها خواهد شد که تجویز این ویتامین، به از بین رفتن درد و بالا بردن کیفیت زندگی افراد کمک بسزایی خواهد نمود.^(۲۶ و ۲۷) همچنین درمان با ویتامین D باعث بهبود Hyperesthesia می‌شود.^(۲۸)

نتیجه‌گیری

خلاصه نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که تجویز فرم فعال ویتامین D، می‌تواند راهی مناسب جهت جلوگیری از درد و درمان درد نوروپاتی باشد. اینکه ویتامین D با چه مکانیسمی درد را کاهش می‌دهد، مسأله‌ای است که نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران در قالب طرح تحقیقاتی (شماره ثبت: ۵۶۹) انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولین آن مرکز ابراز می‌دارند.

فهرست منابع

1- Smith HS, Sang CN. The evolving nature of neuropathic pain: individualizing treatment. *European journal of pain* 2002; 6(suppl B): 13-18.

- 15- Dalziel RG, Bingham S, Sutton D, Grant D, Champion JN, Dennis SA, et al. Allodynia in rats infected with varicella zoster virus: A small animal model for postherpetic neuralgia. *Brain Res Rew* 2004; 46(2): 234-42.
- 16- Wang Y, Chiang TH, Su TP, Hayashi T, Morales M, Hoffer BJ, et al. Vitamin D3 attenuates cortical infarction induced by middle cerebral arterial ligation in rats. *Neuropharmacology* 2000; 39: 873-80.
- 17- Brewer LD, Thibault V, Chen KC, Langub MC, Landfield PW, Porter NM. Vitamin D hormone cofers neuroprotection in parallel with downregulation of L-type calcium channel expression in hippocampal neurons. *The journal of neuroscience* 2001; 21: 98-108.
- 18- Lin R, White JH. The pleiotropic action of vitamin D. *Bioessays* 2004; 26(1): 21-8.
- 19- Fukuoka M, Sakurai K, Ohta T, Kiyoki M, Katayama I. Tacalcitol an active vitamin D3, induces nerve growth factor production in human epidermal keratinocytes. *Skin Pharmacology Apply Skin Physiology* 2001; 14(4): 226-33.
- 20- Eyles D, Brown J, Mackay-Sim A, McGrath J, feron F. Vitamin D3 and brain development 2003; 118: 641-53.
- 21- Ro LS, Chen ST, Tang LM, Jacobs MJ. Effect of NGF and anti-NGF on neuropathic pain in rats following chronic constriction injury of the sciatic nerve. *Pain* 1999; 79: 265-74.
- 22- Bagasra O, Michaels FH, Zeng YM, Bobroski LE, Spitsin SV, Fu ZF, et al. Activation of inducible form of nitric oxide synthase in the brains of patient with multiple sclerosis. *Pruc Natl Acad Sci* 1995; 92: 12041-5.
- 23- Inoue T, Mashimo T, Shibata M, Shibata S, Yoshiya I. Rapid development of nitric oxide-induced hyperalgesia depends on an alternate to the cGMP-mediated pathway in the rat neuropathic pain model. *Brain Res* 1998; 792(2): 263-70.
- 24- Freye E, Latsasch L. Development of opioid tolerance-molecular mechanisms and clinical consequences. *Anesthesiol Intensivmed notfaiimed schmerzther* 2003; 38(1): 14-26.
- 25- Beer TM, Eilers KM, Garzotto M, Hsieh YC, Mori M. Quality of life and pain relief during treatment with calcitriol and docetoxel in symptomatic metastatic androgen independent prostate carcinoma. *Cancer* 2004; 100(4): 758-63.
- 26- Plotnikoff GA. Letter to Editor: Myers KJ. Vitamin D deficiency and chronic pain: cause and effect or epiphenomenon? *Mayo Clinical Proceedings* 2004; 79: 695-6.
- 27- Holick MF. Vitamin D deficiency: What a pain it is. *Mayo Clinical Proceesings* 2003; 78: 1457-9.
- 28- Myers KJ. Vitamin D deficiency and chronic pain: cause and effect or epiphenomenon? *Mayo Clinical Proceedings* 2003; 78: 1463-70.

Antinociceptive effect of 1,25 Dihydroxy Vitamin D3 in a Neuropathic Pain Model

**F. Nasirinezhad, PhD^I E. Ramezani Nick, MD^{II} M. Sadeghi, MD^{II}
H. Pazoki Torodi, PhD^{III}*

Abstract

Background & Aim: In spite of the fact that many human beings suffer from chronic pain such as neuropathic pain the present clinical methods for treatment of neuropathic pain are not completely successful. 1,25 dihydroxy vitamin D3 (1,25 Vit D3) the biologically active metabolite of vitamin D, can increase neurotrophin levels and inhibit the synthesis of nitric oxide synthase which both have potential roles in nociceptive processing. The presence of nuclear receptors of vitamin D in central nervous system indicates the role of this hormone in brain and spinal cord. Vitamin D deficiency in young people is one of the reasons of chronic pain such as musculoskeletal pain. The present experiment was conducted to identify the effects of 1,25 Vit D3 on pain behavior in neuropathic rat model.

Materials and Methods: For this reason 40 male Wistar rats weighing 200-250 g were allocated to four groups each including 10 rats. A mononeuropathy was produced by chronic constrictive injury (CCI) of the sciatic nerve. 1,25 Vit D3 was administered by an i.p. injection every 2 days during a month after CCI. In order to evaluate mechanical and cold allodynia, Von frey and acetone tests were used respectively. Rats were tested before CCI, the day after CCI, and every week following CCI. For statistical comparison, ANOVA and Newman kules were used and $P < 0.05$ was considered as significant.

Results: Injection of Vitamin D in normal rats did not change pain threshold. Findings revealed the exaggerated responses in the group which received CCI. The group which was treated by 1,25 Vit D3 showed a significant reduction in responses in comparison with the other groups. Injection of Vitamin D increased cold allodynia from the first day of experiment and there was a significant difference between Vitamin D with vehicle group which lasted until the end of experiment. In regard to mechanical allodynia, there was a significant difference between vitamin D and the Vehicle group in the fourth week of experiment.

Conclusion: Our results suggest that 1,25 dihydroxy vitamin D3 does not affect the pain threshold in normal animals but reduces abnormal pain in the rat model of neuropathy. The effect of Vitamin D on mechanical and cold allodynia came up with different initiation times and abolishes cold allodynia more effectively than mechanical allodynia. So administration of Vitamin D in clinic may provide new approach for treatment of chronic pain.

Key Words: 1) Vitamin D₃ 2) Cold Allodynia 3) Neuropathic Pain 4) Mechanical Allodynia

*I) Assistant Professor of Physiology, Medical College, Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran. (*Corresponding Author)*

II) General Physician.

III) Assistant Professor of Physiology, Medical College, Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.